



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

CONTROL BIOLÓGICO DEL GORGOJO

Sitophilus zeamais

EN ARROZ ALMACENADO

Trabajo de Fin de Grado

Ingeniería Agroambiental y del Paisaje

Autor: David Rodríguez Correas

Director: Jordi Riudavets

Tutor: Xavier Sorribas Royo

08 / Julio / 2020

Resum

Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) es una plaga important que afecta al gra d'arròs quan està emmagatzemat en sitges i magatzems abans de ser processat. Es va dur a terme al laboratori el mètode del control biològic en arròs closca emmagatzemat per a avaluar la seva efectivitat. Es va comprovar si *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) era capaç de penetrar verticalment per arròs closca fins aconseguir arribar i parasitar les larves de *S. zeamais* proporcionades a diferents alçades (40 cm, 100 cm i 150 cm i a alçades mixtes), en tubs de PVC. Al fons de cada un d'aquests, es va col·locar una gàbia amb arròs closca infestat (a una dosi de 410 adults plaga/ kg) i a la superfície es van deixar anar 3 parelles dels parasitoides. Tot l'estudi es va realitzar a condicions ambientals controlades de: temperatura (28 ± 2 °C), humitat relativa (75 ± 5 %) i fotoperíode (16 h: 8h; L:F). El parasitoide va aconseguir reduir la plaga globalment a totes les alçades en més d'un 89 % i no es van detectar diferències significatives entre aquestes, per tant, *A. calandrae* no va tindre cap problema en penetrar l'arròs closca fins profunditats de fins a 1,5 m. Es va observar un biaix en el gènere dels parasitoides emergits, amb un percentatge global de femelles del 32 %. La contaminació final de l'arròs, en biomassa total d'insectes, va ser un 84 % menor en el control biològic (parasitoide + plaga) que en el testimoni (sense parasitoide). Es pot concloure que aquest control biològic ha obtingut resultats molt positius i seria un mètode interessant per a aplicar en sitges i magatzems amb arròs closca.

Resumen

Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) es una importante plaga que afecta al grano de arroz cuando está almacenado en silos y almacenes antes de ser procesado. Se llevó a cabo en el laboratorio el método del control biológico en arroz cáscara almacenado para evaluar su efectividad. Se comprobó si *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) era capaz de penetrar verticalmente por arroz cáscara hasta lograr alcanzar y parasitar las larvas de *S. zeamais* proporcionadas a diferentes alturas (40 cm, 100 cm y 150 cm y a profundidades mixtas), en tubos de PVC. En el fondo de cada uno de éstos, se colocó una jaula con arroz cáscara infestado (a una dosis de 410 adultos plaga/ kg) y en la superficie se soltaron 3 parejas de los parasitoides. Todo el estudio se realizó bajo condiciones ambientales controladas de: temperatura (28 ± 2 °C), humedad relativa (75 ± 5 %) y fotoperiodo (16 h:8h; L:O). El parasitoide consiguió reducir la plaga globalmente en todas las alturas en más de un 89 % y no se detectaron diferencias significativas entre las mismas, por lo que, *A. calandrae* no tuvo ningún problema en penetrar el arroz cáscara hasta profundidades de hasta 1,5 m. Se observó un sesgo en el género de los parasitoides emergidos, con un porcentaje global de hembras del 32 %. La contaminación final del arroz, en biomasa total de insectos, fue un 84 % menor en el control biológico (parasitoide + plaga) que en el testigo (sin parasitoide). Se puede concluir que este control biológico ha obtenido resultados muy positivos y sería un método interesante para aplicar en silos y almacenes con arroz cáscara.

Abstract

Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) is a major pest affecting rice grain when stored in silos and warehouses prior to processing. The biological control method was carried out in the laboratory on stored paddy rice to evaluate its effectiveness. We tested whether *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) was able to penetrate vertically through paddy rice until it reached and parasitized *S. zeamais* larvae provided at different heights (40 cm, 100 cm and 150 cm and at mixed depths), in PVC tubes. At the bottom of each tube, a cage with infested paddy rice was placed (at a dose of 410 adult pests/kg) and at the surface 3 pairs of the parasitoids were released. The entire study was conducted under controlled environmental conditions of: temperature (28 ± 2 °C), relative humidity (75 ± 5 %) and photoperiod (16 h:8h; L:W). The parasitoid managed to reduce the pest globally at all altitudes by more than 89 % and no significant differences were detected between them. Therefore, *A. calandrae* had no problem penetrating the paddy rice to depths of up to 1.5 m. A bias was observed in the gender of the emerged parasites, with an overall percentage of females of 32%. The final contamination of rice, in total insect biomass, was 84% lower in the biological control (parasitoid + pest) than in the control (no parasitoid). It can be concluded that this biological control has obtained very positive results and would be an interesting method to apply in silos and warehouses with paddy rice.

Sumario

AGRADECIMIENTOS	8
1. INTRODUCCIÓN	9
1.1. El arroz y su almacenado.....	9
1.2. Plagas de almacén y su control	13
1.3. Control biológico de <i>S. zeamais</i> en arroz almacenado	15
2. OBJETIVOS	18
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.2. Insectos y condiciones de cría.....	19
3.3. Capacidad de búsqueda de los parasitoides a diferentes profundidades	21
3.4. Tratamiento estadístico de los datos.....	24
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSIÓN	29
6. CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFIA	32

Índice de figuras

Figura 1-1. Producción mundial de cultivos 2018.	9
Figura 1-2. Pueblo fortificado en Anatolia con un granero.	10
Figura 1-3. Modelo de madera de un granero con techo plano, encontrado en Saqqara, originario de (2040-1785 a. C.).	11
Figura 1-4. Ruinas del granero abovedado de Ramsés II, en Tebas occidental.	11
Figura 1-5. Graneros Tellem, en Mali.	11
Figura 1-6. Almacén horizontal de arroz cáscara.	12
Figura 1-7. Almacén vertical de arroz cáscara.	12
Figura 1-8. Adulto de <i>S. zeamais</i> .	16
Figura 1-9. Adulto de <i>A. calandrea</i> : A) macho. B) hembra.	17
Figura 3-1. Pote de cría de <i>S. zeamais</i> .	19
Figura 3-2. Potes de cría de <i>A. calandrea</i> .	20
Figura 3-3. Bandeja de cría con vaselina.	20
Figura 3-4. Esquema de una tanda con los cuatro tratamientos, con las tuberías (en azul) y las jaulas (en negro).	21
Figura 3-5. Testigo.	22
Figura 3-6. Jaula.	22
Figura 3-7. Pote para arroz infestado.	22
Figura 3-8. Contenido de los tubos de PVC.	23
Figura 3-9. Sellado de los tubos.	23
Figura 4-1. Número medio (\pm EEM) de <i>S. zeamais</i> (verde en tratamientos y verde punteado en testigo) y <i>A. calandrea</i> (en rojo) emergidos cuando el parasitoide fue liberado a diferentes alturas en relación con el número de adultos plaga del testigo. Los valores de cada	

tratamiento no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (Prueba de tukey, $P < 0.05$) $n=6, 8$ (control). _____ 27

Figura 4-2. Biomasa media (\pm EEM) de *S. zeamais* (verde: tratamientos, verde punteado: control) y *A. calandreae* (en rojo) emergidos cuando el parasitoide fue liberado a diferentes alturas en relación con la biomasa de adultos plaga del testigo. Los valores de cada tratamiento no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (Prueba de tukey, $P < 0.05$) $n=6, 8$ (control). _____ 28



Índice de tablas

Tabla 4-1. Promedio (\pm EEM) del número de adultos emergidos de *S. zeamais* y *A. calandreae* en el testigo (sin parasitoides) y en los tratamientos, cuando a éstos se les proporcionaron larvas del huésped a tres niveles de profundidad, en arroz. (n=6, 8 (control)). _____ 25

Tabla 4-2. Porcentaje (\pm EEM) de hembras emergidas de *A. calandreae*, cuando al parasitoide se les proporcionó larvas del huésped a tres niveles de profundidad en arroz. (n=6) _____ 26

Agradecimientos

A pesar de ser un año complicado por la pandemia de COVID-19, he tenido la suerte de poder completar este TFG, disfrutando y aprendiendo de principio a fin.

Primero de todo, me gustaría agradecer a mi tutor Xavier Sorribas por haber enfocado mis ideas primarias del TFG hacia un objetivo más real y actual. También quiero agradecer a mi director Jordi Riudavets por enseñarme el maravilloso mundo de las plagas de almacén y su control, que hasta ese momento era algo totalmente desconocido para mí. Y, por supuesto, quiero agradecer a todo el equipo con el que he compartido mi día a día en el laboratorio de Entomología y me han ayudado en todo y más, Silvia, Víctor y Pili.

A mi familia y amigos.



1. Introducción

1.1. El arroz y su almacenado

El arroz, uno de esos cereales tan habituales hoy en día en nuestra dieta, data, según algunos historiadores, de hace más de 10.000 años, cuando los habitantes de la zona subtropical asiática empezaron a consumir *Oryza rufipogon*, una especie de hierba silvestre que crecía en marismas y pantanos. Los agricultores de la época fueron seleccionando características deseables y domesticándolo hasta transformarlo lentamente en el hoy conocido *Oryza sativa*, un cultivo esencial para miles de millones de personas en todo el mundo (Kovach et al., 2007).

Según datos de la FAO de 2018 (Figura 1-1), el arroz es el tercer cultivo más producido en el mundo, con más de 782 millones de toneladas anuales. China e India producen un 27 y 22 % respectivamente, casi la mitad de la producción mundial de arroz. España produjo 808.167 t, siendo el segundo país productor de Europa por detrás de Italia, aunque tan solo representa el 0,1 % de la producción mundial.

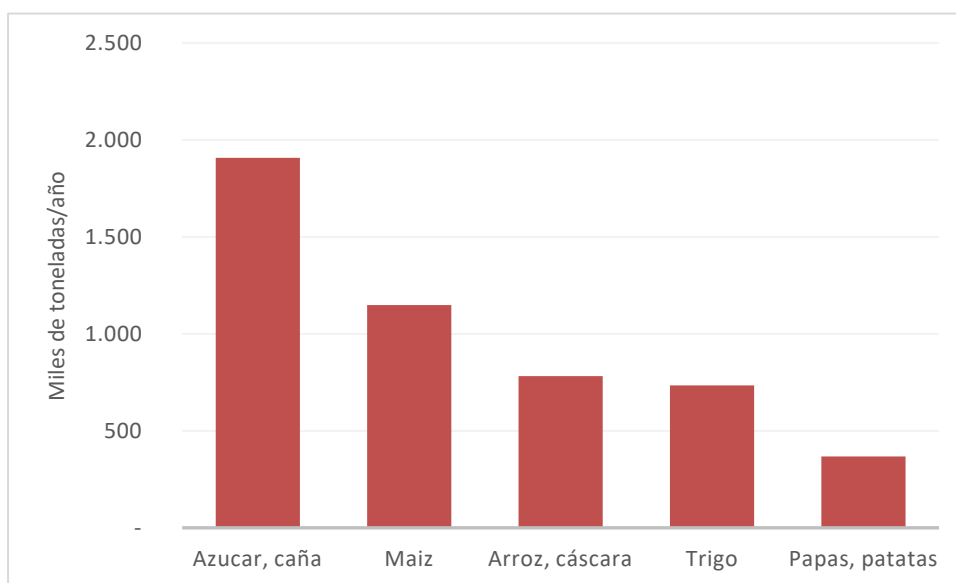


Figura 1-1. Producción mundial de cultivos en 2018. FAO.

En cuanto al consumo mundial de este cereal, los datos registrados en 2019 muestran que los principales productores también son los mayores consumidores. Así pues, China e India

representan el 50 % del consumo mundial de arroz, con 144 y 100 millones de toneladas métricas, respectivamente (Pérez A., 2019). España, por el contrario, en 2017 consumió 247.000 toneladas (Europa press, 2017), lo que representa una media de unos 6 kilos por persona al año, siendo un 27 % más que la media europea, que se sitúa en 4,7 kg por persona al año.

El arroz se puede agrupar en dos clases, según el tipo de grano: el tipo Japónica es de grano medio o redondo, mientras que el tipo Índica es de grano largo. Datos del MAPAMA muestran que, en España, durante la campaña 2017/2018, se produjeron 479.503 toneladas de arroz tipo Japónica y 355.675 t de la Índica. No obstante, se observó una tendencia ascendente de ésta última en la siguiente campaña, hasta llegar prácticamente a igualarse (Valencia Fruits, 2019).

El cultivo del arroz, desde que se siembra hasta que se cosecha, puede variar entre 3 meses, en variedades muy tempranas, a 8 meses, en variedades muy tardías, siendo lo más habitual un ciclo de 4-6 meses (FAO, 2004). Una vez realizada la trilla, proceso en el que se separa el grano de la espiga, se procede al secado, al sol o mediante secadoras de aire caliente. Después del secado se almacena en silos o almacenes cerrados a la espera de ser procesados y distribuidos al consumidor.

El almacenaje del cereal no es una práctica moderna de la edad contemporánea. Existen registros históricos donde ya aparecen almacenes pertenecientes al período Neolítico. En un pequeño pueblo fortificado de la península de Anatolia, la actual Turquía, se halló un granero construido con ladrillos de barro que databa del año 5200 a.C. (Figura 1-2) (Mellaart, 1961).

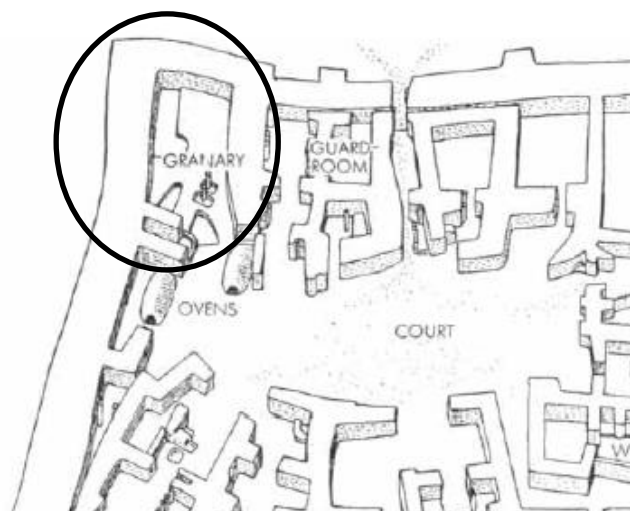


Figura 1-2. Pueblo fortificado en Anatolia con un granero (5200 a.C.). (Mellaart, 1961)

El empleo temprano de graneros está documentado por modelos y dibujos encontrados en varias tumbas egipcias desde el período arcaico (~3000-2635 a.C). Se cree que debido a las malas cosechas producidas por la falta de inundaciones del Nilo y las consecuentes hambrunas sufridas por la población, los antiguos egipcios se vieron obligados a almacenar el grano (Levinson, 1985). Construyeron almacenes de distintos tipos durante la historia, desde cámaras condensadas en un edificio con techo plano (Figura 1-3), hasta graneros con forma de cúpula de hasta 4-6 m de altura (Figura 1-4). Todavía existen pequeñas estructuras (Figura 1-5) construidas con ladrillos de barro para almacenar grano, principalmente en países en vías de desarrollo.



Figura 1-3. Modelo de madera de un granero con techo plano, encontrado en Saqqara, originario de (2040-1785 a. C.). (Levinson, 1985)



Figura 1-4. Ruinas del granero abovedado de Ramsés II, en Tebas occidental (3250 a.C.). (Levinson, 1985)



Figura 1-5. Graneros Tellem, en Mali. (imagen recuperada de: <https://antonioytrini.wordpress.com/>)

Actualmente, el almacenamiento de arroz cáscara, una vez recolectado, se realiza en silos horizontales o verticales. Los primeros, donde se almacena casi todo a granel, son almacenes o naves (Figura 1-6) en los que se pueden llegar a almacenar hasta 2.000 toneladas (Moreno, 2018). Una pequeña proporción se almacena en sacos, pero es un método más caro y lento (Pekmez H., 2016). Los silos verticales (Figura 1-7) construidos en chapa de acero suelen tener una capacidad de unas 150-250 toneladas cada uno. La proporción de arroz almacenado en silos horizontales a granel suele ser mayor (70 %) que en los verticales (30 %) (Moreno, 2018).



Figura 1-6. Almacén horizontal de arroz cáscara. (Imagen recuperada de <https://www.shutterstock.com>)



Figura 1-7. Silo de arroz cáscara. (Imagen recuperada de <https://www.indiamart.com>)

La seguridad de la cosecha de cereales y su almacenamiento desempeñan un papel crucial para evitar las pérdidas causadas principalmente por gorgojos, escarabajos, polillas y roedores (Mishra et al., 2012). Aunque no solo se producen pérdidas por la disminución de peso del grano, también se ve reducida su calidad por el crecimiento de hongos (Trematerra, 2009), que pueden causar decoloración en el grano, pérdida de valor nutritivo, malos olores, incluso pueden dar lugar a contaminación por micotoxinas (Magan et al., 2003). La actividad fúngica se ve favorecida por la humedad y la temperatura (Sauer, 1988), variables que aumentan con la presencia de los insectos en el grano (Christensen & Hodson, 1960; Howe, 1962). Otro aspecto a tener en cuenta es la contaminación del grano por insectos vivos o muertos al final del almacenamiento ya que, en el caso del arroz, estas impurezas de origen animal están limitadas a 0,1 % p/p (FAO, 2011) y los requerimientos por parte del consumidor final, no contemplan la presencia de ningún tipo de insecto en el producto final.

En países en vías de desarrollo, las pérdidas posteriores a la cosecha del arroz pueden oscilar entre el 10-22 % en cantidad y hasta el 50 % en calidad (Kebede et al., 2019). Las materias primas pueden venir infestadas del campo, pero normalmente la infestación inicial se produce dentro de los almacenes (Riudavets, 2018b). Para garantizar un almacenamiento seguro, es necesario seleccionar cuidadosamente el lugar y la estructura de almacenamiento, la aireación adecuada de los granos y realizar una inspección periódica de las existencias de granos, así como una limpieza y fumigación cuando sea necesario (Mishra et al., 2012).

1.2. Plagas de almacén y su control

Ya en el antiguo Egipto existían métodos de control de plagas, en el Papiro Ebers (Escrito ~1600 a.C., Bryan 1930) se afirma que, para evitar ataques de roedores, cubrían la pared y el suelo del granero con estiércol de gacela o grasa de gato aplicado a los sacos. Se conoce que durante el Nuevo Reino (~1500-1080 a.C.), se usaba azufre en los graneros para combatir diversas plagas (Levinson, 1985). Algunas de las cuales se han encontrado en tumbas egipcias y se corresponden con las mismas especies que se encuentran en los graneros actualmente: *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Rhyzopertha dominica* (Fabr.) (Coleoptera: Bostrichidae), *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) y *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae), entre otros (Levinson, 1985).

Tanto los insecticidas como los fumigantes (biocidas) son componentes esenciales en la mayoría de los sistemas de protección de productos almacenados hoy en día. La Fosfina (Fosfuro de Magnesio) y el Bromuro de Metilo, hasta hace unos años, eran los principales fumigantes a nivel mundial (Athanassiou and Arthur, 2018), pero este último está dejando de usarse, y en España ya se ha restringido su uso a partir del Protocolo de Montreal de 1989. La dependencia de un único producto para el control de plagas puede inducir la aparición de resistencias en la población de las mismas. De hecho, ya existen evidencias de resistencias a la Fosfina en *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) (Pimentel et al., 2009), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) (Daglish et al., 2014), *T. castaneum* y *R. dominica* (Opit et al., 2012). En la Unión Europea, la Deltametrina y el Pirimifós-Metilo son los protectores de granos más utilizados (Athanassiou & Arthur, 2018), y también se han encontrado varias plagas resistentes a ellos (Baena

et al., 2019; Guedes et al., 2009; De Andrade Melo et al., 2018). Además, la exposición de los operarios a productos como la Fosfina puede producir toxicidad neurológica y respiratoria (Brautbar & Howard, 2002).

Para evitar los factores adversos producidos por el uso de plaguicidas químicos, se están explorando métodos alternativos como las atmosferas modificadas y controladas. El uso de CO₂ en silos y en bolsas grandes herméticas ha resultado eficaz contra *S. zeamais* y *S. oryzae* (Carvalho et al., 2012). Además, se puede aplicar en cualquiera de las fases del proceso de almacenamiento, elaboración y distribución de los cereales, y tiene la ventaja de que no deja residuos tóxicos, por lo que está autorizado en producción ecológica (Riudavets, 2018b)

Otra alternativa es el tratamiento térmico, el cual sirve para desinfectar tanto el producto como las estructuras. Cuanto más extremas son las temperaturas más rápidamente mueren los insectos. A temperaturas de entre 50-62 °C mueren en menos de 1 hora y a temperaturas por debajo de 0 °C tardan unas semanas o meses, si se aclimatan. Aunque tiene la ventaja de que no se requiere ningún permiso especial para su uso y que, hasta donde se sabe, no generan resistencias en insectos, este método requiere de una amplia inversión de capital y los productos pueden verse afectados si las técnicas no se utilizan adecuadamente (Winters, 2002). Aun así, cada vez es más habitual el almacenamiento de materias primas refrigeradas a temperaturas por debajo del límite de desarrollo de los insectos (15-18 °C) (Riudavets, 2018b).

También existen otros métodos; como trampas de feromonas atrayentes, principalmente para polillas, como *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) o *Ephestia spp.* (Lepidoptera: Pyralidae) (Athanassiou & Arthur, 2018); o la conservación de materias primas al vacío, aunque a las presiones a las que se trabaja habitualmente no son capaces de eliminar huevos, pero consiguen parar el desarrollo de los insectos (Riudavets, 2018a).

El control biológico de plagas en productos almacenados, a pesar de ser un método inocuo tanto para la salud de los consumidores como para el medio ambiente (Riudavets, 2018a), está muy poco desarrollado comercialmente en la actualidad. El control biológico consiste en introducir agentes antagonistas de las especies plaga como: patógenos (Lord, 2009), parasitoides (Lucas & Riudavets, 2002) y depredadores (Press et al., 1975), y así reducir el número final de insectos en el grano al final del almacenado. Se puede usar en una gran variedad de productos almacenados, tanto para



controlar insectos de la propia infraestructura, realizando sueltas a una determinada dosis (Guzmán et al., 2013), como para contener plagas instaladas en las pilas de grano, introduciendo el número suficiente de agentes biológicos al principio del periodo de almacenado. En el caso de largos periodos de almacenamiento, se pueden requerir introducciones adicionales para evitar que la población de la plaga repunte (Arbogast & Mullen, 1990). Aunque es un método eficaz y en auge, tiene el hándicap, como los otros métodos, que al final del proceso de almacenado puede haber una contaminación por insectos, por lo tanto, este método se tiene que complementar con otro que elimine los insectos vivos al final del proceso de almacenamiento previo a la comercialización (Riudavets, 2018a).

Las plagas más preocupantes del arroz almacenado en la costa mediterránea de España son los gorgojos *S. zeamais* y *R. dominica*, además, pueden sobrevivir al pulido del arroz y estar presentes en el producto final (Solà et al., 2013). Son plagas primarias, ya que atacan al grano entero y son capaces de penetrar por la capa de la semilla o vaina no dañadas, para alimentarse del endospermo, cotiledones o embrión. En cuanto a plagas secundarias, que son las que se alimentan de productos de grano o de grano previamente dañado por las plagas primarias o como resultado de la cosecha, manipulación y transporte, las más comunes del cereal almacenado en el noreste de España son: *P. interpunctella*, *T. castaneum*, *O. surinamensis* y *Lasioderma serricorne* (Fabr.) (Coleoptera: Anobiidae) (Athanassiou & Arthur, 2018; Riudavets et al., 2002).

La mayoría de estas plagas tienen en común su tendencia a instalarse en la superficie de la pila de grano, por lo que prácticamente la totalidad de estos individuos se encuentran en los primeros 100 cm (Athanassiou et al., 2003; Zakladnoy, 2018). Al ser plagas polífagas que se alimentan de varios tipos de cereal, además del arroz, y ser cosmopolitas, la mayoría de ellas, su distribución se ve favorecida por todas las regiones cálidas y templadas del planeta.

1.3. Control biológico de *S. zeamais* en arroz almacenado

El presente TFG se centrará en el control biológico de plagas, concretamente del gorgojo *S. zeamais* (Figura 1-8). Un insecto con un peso de 2,34 mg (Ojo & Omoloye, 2012) y de 3-3,5 mm de longitud. Las hembras adultas realizan un pequeño agujero en el grano, en el que ovipositan y luego lo sellan

con una mucosa. Las hembras ovipositan sexualmente un solo huevo en cada agujero. El huevo eclosiona a los pocos días dando lugar a una larva que se alimenta en el interior del grano. La larva pasa por 4 estadios larvales antes de formarse la pupa, la cual se desarrolla también en el interior del grano hasta que emerge el adulto, dejando un agujero de emergencia característico (Omkar, 2018). El ciclo de vida se completa en unos 30 días y el adulto, que se alimenta de grano dañado, tiene una longevidad de unos 3-6 meses. Dependiendo de la temperatura y humedad, el número de generaciones al año puede variar de 4-5 hasta 10-12, en almacenes con calefacción (Omkar, 2018).



Figura 1-8. Adulto de *S. zeamais*. (Fotos de D. Rodríguez).

El control de esta plaga en arroz cáscara se realizará mediante *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) (Figura 1-9). Un himenóptero de 2 mm de longitud (Howard & Baker, 2003) y un peso de 0,32 mg (Iturralde-García et al., 2020). Se ha elegido a este parasitoide porque, además de *S. zeamais*, también parasita a otros coleópteros que infestan productos almacenados (Lucas & Riudavets, 2002; Belda & Riudavets, 2010). Su carácter cosmopolita y su abundancia en Cataluña, también hace que sea un buen candidato para el control biológico (Riudavets et al., 2002). Este ectoparasitoide, después de poner su huevo en la superficie de la larva, la perfora con su ovopositor y la paraliza (Belda & Riudavets, 2010). El tiempo de desarrollo de huevo a adulto es de 44 y 10 días a temperaturas de 10 y 35 °C, respectivamente. Además de parasitar al huésped para reproducirse, también lo depreda para alimentarse (Arbogast & Mullen, 1990; Lebreton et al., 2009), prefiriendo las larvas de mayor tamaño para la puesta de huevos que se desarrollarán en

hembras y las larvas de menor tamaño para su alimentación y puesta de huevos de la que surgirán los machos. (Choi et al., 2001; Smith, 1993a)

Las condiciones ambientales afectan al número de descendientes del parasitoide. A 20 °C de temperatura se estima que el número medio de descendientes a lo largo de su vida es de 10,4, aumentando hasta 42,6 a 35 °C (Smith, 1992). La humedad en el grano también es un factor determinante, aumentando su progenie de 29,7 individuos a 11,6 % de humedad, hasta 37,8 a 14,6 %. Lo que sugiere una mayor fecundidad de la especie a estas temperaturas y humedades más elevadas (Smith, 1993b). Los silos o almacenes donde se encuentran los huéspedes, no suelen tener unas condiciones extremas, lo que facilita la supervivencia del parasitoide. Además, ese entorno es propicio para que pueda localizar y atacar al huésped (Belda & Riudavets, 2010). Está demostrado que el parasitoide puede encontrar y parasitar a especies del género *Sitophilus* hasta a 15 m de distancia (Niedermayer et al., 2016) y también es capaz de localizar arroz sin infestar o harina, en condiciones de almacenamiento (Belda & Riudavets, 2010).

En un estudio anterior en el que se utilizó *A. calandrae* para controlar *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae), una importante plaga de garbanzos almacenados, se observó que el parasitoide no tuvo ningún problema en penetrar verticalmente la pila de garbanzos almacenados y parasitar al huésped (Iturralde-García et al., 2020). Esta especie podría ser una buena candidata para controlar la plaga *S. zeamais* en arroz almacenado, sin embargo, se desconoce cuál es su eficacia en este tipo de cereales donde el espacio entre granos es mucho más reducido, pudiendo dificultar el paso del parasitoide a través de ellos para alcanzar la plaga.

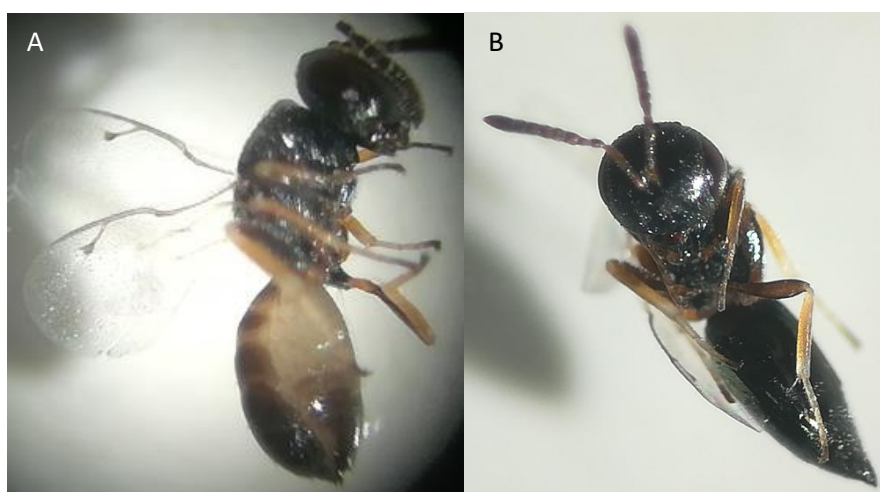


Figura 1-9. Adulto de *A. calandrae*: A) macho. B) hembra. (Fotos de D. Rodríguez).

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo de final de grado consistió en comprobar si el parasitoide *A. calandrae* era capaz de controlar la plaga del arroz *S. zeamais*.

Para alcanzar este objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Comprobar si el parasitoide es capaz de alcanzar y parasitar las larvas del gorgojo proporcionadas a diferentes profundidades de la pila de arroz cáscara.
- Determinar el nivel de parasitismo en cada una de las alturas y en el tratamiento mixto, y compararlo con el testigo para observar si existen diferencias significativas.
- Comparar el nivel de contaminación final del arroz tratado con el control biológico (parasitoide + plaga) con el testigo sin tratar (plaga).

3. Materiales y métodos

3.2. Insectos y condiciones de cría

Las poblaciones de *S. zeamais* y de *A. calandreae* se obtuvieron de almacenes de Tarragona. La cría de estos insectos se llevó a cabo en el IRTA centro Cabrils, en condiciones ambientales controladas de: temperatura (28 ± 2 °C), humedad relativa (75 ± 5 %) y fotoperiodo (16 h:8h; L:O).

Todo el arroz utilizado procedía del Delta del Ebro, para la cría se usó arroz integral del tipo japónica “Bahía-Senia”, mientras que para los ensayos se usó arroz cáscara “Antara”.

Para realizar la cría de *S. zeamais* y obtener larvas de edades conocidas, para después ofrecérselas a los parasitoides, se introdujeron dos cucharaditas de adultos plaga (100 aprox.) en un pote con arroz integral. A la semana siguiente, el contenido de ese recipiente se distribuyó en 2 potes nuevos: en el primero, se introdujeron los adultos del recipiente antiguo (Figura 3-1) junto con arroz integral sin infestar y, en el segundo, se depositó únicamente el arroz integral infestado de la semana anterior. En este último recipiente se conoce que la edad de los individuos plaga es de 1 semana. La cría se realizó cada semana durante prácticamente todo el experimento.



Figura 3-1. Pote de cría de *S.zeamais*. (Foto de D. Rodríguez).

Para realizar la cría de *A. calandreae* (Figura 3-2), se introdujeron adultos de 1 a 2 semanas de edad (desde su emergencia del arroz), en un pote con arroz integral infestado por *S. zeamais* después de 2 a 3 semanas de haber efectuado la puesta, ya que el parasitoide se decanta por parasitar larvas de estadios más tardíos. A una dosis de 20 hembras y 6 machos por 50 g de arroz integral, por pote. Como suplemento alimenticio, se le añadieron dos tubos de ensayo con una solución azucarada al 20 % y una tira de papel impregnada en miel. La cría se realizó cada semana durante prácticamente todo el experimento.

Al usar una cámara con múltiples especies de insectos, además de las usadas en este experimento, se tomaron ciertas precauciones para evitar posibles contaminaciones: sellar cada pote de cría con Parafilm, colocar los pots de cría dentro de una bandeja de metal impregnada de vaselina (Figura 3-3), o comprobar que los respiraderos de cada pote no tuvieran ningún defecto por donde se pudieran escapar o entrar los insectos.



Figura 3-2. Potes de cría de *A. calandreae*. (Foto de D. Rodríguez).



Figura 3-3. Bandeja de cría con vaselina. (Foto de D. Rodríguez)

3.3. Capacidad de búsqueda de los parasitoides a diferentes profundidades

Para evaluar la capacidad de *A. calandrae* para localizar al huésped y penetrar en profundidad a través de la pila de arroz, se realizaron cuatro tratamientos a diferente altura (40, 100 y 150 cm y un tratamiento mixto). A los parasitoides se les proporcionó larvas de *S. zeamais* dentro de jaulas, en la parte inferior de las tuberías de cloruro de polivinilo (PVC) de 20 cm de diámetro interno, excepto en el tratamiento mixto, donde se ofrecieron las larvas a las tres alturas simultáneamente (Figura 3-4).

Por falta de material, el experimento se tuvo que desarrollar en 2 tandas, idénticas entre sí, una seguida de la otra, de forma que en cada tanda se realizaron 3 de las 6 repeticiones que le correspondía a cada tratamiento. También se realizaron 8 repeticiones para el testigo, siguiendo la misma metodología que los tratamientos anteriores, pero en potes y sin liberar al parasitoide (Figura 3-5). Para poder solapar tareas, ese mismo arroz se volvió a reutilizar para la segunda tanda, previo paso por el congelador (24 h para matar posibles parasitoides que hubieran quedado después de que se vaciaran los tubos).

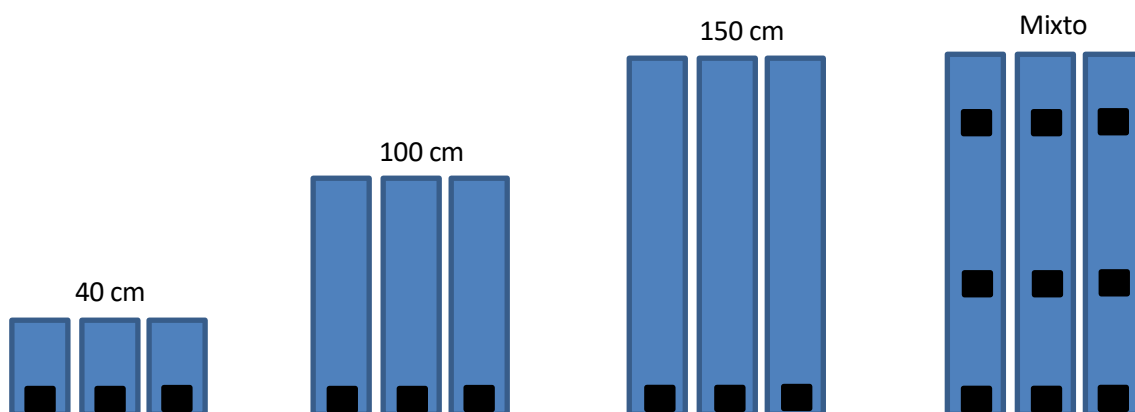


Figura 3-4. Esquema de una tanda con los cuatro tratamientos, con las tuberías (en azul) y las jaulas (en negro).

Se utilizaron 18 filtros con rejilla de acero inoxidable a modo de jaulas (Figura 3-4 y 3-6) de 6.8 cm de alto (5.1 diámetro interno).



Figura 3-5. Testigo. (Foto de D. Rodríguez)



Figura 3-6. Jaula. (Foto de D. Rodríguez)

Puesto que no se pudo ofrecer las larvas de la plaga a los parasitoides manualmente, una a una, se tuvo que infestar arroz cáscara previamente y ofrecérselas dentro del grano. Se dedujo una dosis para infestar el arroz de 410 adultos plaga (sin sexar)/kg arroz, para 3 pares (hembra:macho) de parasitoides adultos (Lucas & Riudavets, 2002; Iturralde-García et al., 2020).

Se introdujeron 550 g de arroz cáscara en un pote (Figura 3-7), con 226 adultos de *S. zeamais* y durante 15 días se fue volteando para que resultara un arroz infestado bien homogéneo.



Figura 3-7. Pote para arroz infestado. (Foto de D. Rodríguez)

Para cada tanda del experimento, las 9 jaulas usadas en los tres primeros tratamientos (40 cm, 100 cm y 150 cm) contenían 25 g arroz cáscara infestado por *S. zeamais*, cada una. Para obtener resultados comparables entre sí, todas las jaulas del tratamiento mixto contenían 8,33 g. Es decir, en cada tubo de PVC había la misma cantidad de arroz cáscara infestado: 25 g.

Para cada tanda se necesitaron 550 g de arroz cáscara infestado: 300 g para los cuatro tratamientos, 200 g para los ocho potes testigo, y 50 g adicionales por pérdidas causadas por la alimentación de los *S. zeamais* adultos.

Una vez colocadas las jaulas, se llenaron todas las tuberías (40, 100 y 150 cm) hasta la parte superior con arroz cáscara (un total de 6,8, 17 y 25.5 kg respectivamente), haciendo un total de 150 kg de arroz cáscara por tanda.

Se liberaron 3 pares adultos de *A. calandreae* de 1 a 2 semanas de edad en la superficie del arroz, junto con una tira de miel (Figura 3-8) y se sellaron las tuberías con malla de tela (Figura 3-9).



Figura 3-8. Contenido de los tubos de PVC. (Fotos de D. Rodríguez)



Figura 3-9. Sellado de los tubos. (Foto de D. Rodríguez)

Después de una semana se vaciaron las tuberías de PVC, se eliminaron los parasitoides y se depositó el contenido de las jaulas metálicas en recipientes de plástico aislados. Después de 21 días en la cámara, se registraron los adultos de *S. zeamais* y *A. calandreae* emergidos. En el caso de los parasitoides también se determinó el sexo para analizar un posible sesgo.

3.4. Tratamiento estadístico de los datos

Para realizar los análisis estadísticos se utilizaron los datos extraídos de las 6 repeticiones de los 4 tratamientos (40 cm, 100 cm y 150 cm y el tratamiento mixto) y las 8 repeticiones del testigo.

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías para analizar el número de *S. zeamais* y *A. calandreae* que emergieron en cada uno de los tratamientos. Las comparaciones entre los mismos se realizaron mediante la Prueba de Tukey.

Para analizar el número y la biomasa de la plaga y los parasitoides también se realizaron ANOVAs de dos vías y la Prueba de Tukey para las comparaciones entre los tratamientos.

Las proporciones de hembras parasitoides emergidas a diferentes profundidades se determinaron mediante la Prueba t de Student.

Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa JMP (JMP 8.0.1, 2009, SAS Institute).



4. Resultados

El número de *S. zeamais* emergidos en el tratamiento testigo, donde no se liberó al parasitoide, fue de 24.0 ± 1.4 (Tabla 4-1). Sin embargo, el número de gorgojos que emergieron en los tratamientos donde se liberaron los parasitoides fue muy inferior. Además, el himenóptero consiguió reducir la plaga de forma significativa en todas las profundidades (Tabla 4-1), y no se detectaron diferencias significativas en la emergencia de *S. zeamais* en ninguno de los 4 tratamientos a las diferentes alturas y en el mixto a las tres alturas simultáneamente (Tabla 4-1).

Tabla 4-1. Promedio (\pm EEM) del número de adultos emergidos de *S. zeamais* y *A. calandreae* en el testigo (sin parasitoides) y en los tratamientos, cuando a éstos se les proporcionaron larvas del huésped a tres niveles de profundidad, en arroz. (n=6, 8 (control)).

Tratamiento	Nº Adultos emergidos	
	<i>S. zeamais</i>	<i>A. calandreae</i>
Testigo	$24.0 \pm 1.4a$	-
40 cm	$2.5 \pm 0.3b$	$12.0 \pm 3.3a$
100 cm	$1.7 \pm 0.6b$	$14.8 \pm 1.8a$
150 cm	$1.8 \pm 1.3b$	$11.7 \pm 3.3a$
Mixto	$2.2 \pm 0.5b$	$11.7 \pm 2.7a$
	$F= 106.80$	$F= 0.289$
	$P < 0.0001$	$P= 0.833$

Los valores de cada tratamiento no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (Prueba de tukey, $P < 0.05$)

En cuanto a los parasitoides adultos que emergieron posteriormente, tampoco se detectaron diferencias significativas entre tratamientos a diferentes alturas (Tabla 4-1). No obstante, se observó un sesgo, a favor del macho, en la proporción de sexos de los parasitoides emergidos, en el tratamiento de 40 cm y en el mixto (Tabla 4-2).

Tabla 4-2. Porcentaje (\pm EEM) de hembras emergidas de *A. calandrae*, cuando al parasitoide se les proporcionó larvas del huésped a tres niveles de profundidad en arroz. (n=6)

Posición	% <i>A. calandrae</i> hembras	Student <i>t</i> test	
		<i>t</i>	<i>P</i>
40 cm	23.9 \pm 5.7*	3.90	< 0.05
100 cm	34.8 \pm 9.4	1.55	0.18
150 cm	37.1 \pm 9.3	1.53	0.19
Mixto	31.3 \pm 4.7*	4.11	< 0.05

*Denota una desviación significativa de 1:1 hembra:macho (prueba *t* de Student)

Si tenemos en cuenta el número total de insectos emergidos (plaga más enemigo natural), solo se observaron diferencias significativas en el número insectos emergidos en los tratamientos a 150 cm y mixto, en comparación con los insectos emergidos en el testigo (sin parasitoide) ($F= 3.62$; g.l.= 4,31; $P= 0.017$) (Figura 4-1). Aunque el número de insectos emergidos en los tratamientos a 40 cm y 100 cm fue de media inferior, la variabilidad de los datos no permitió detectar diferencias estadísticas con el tratamiento testigo.



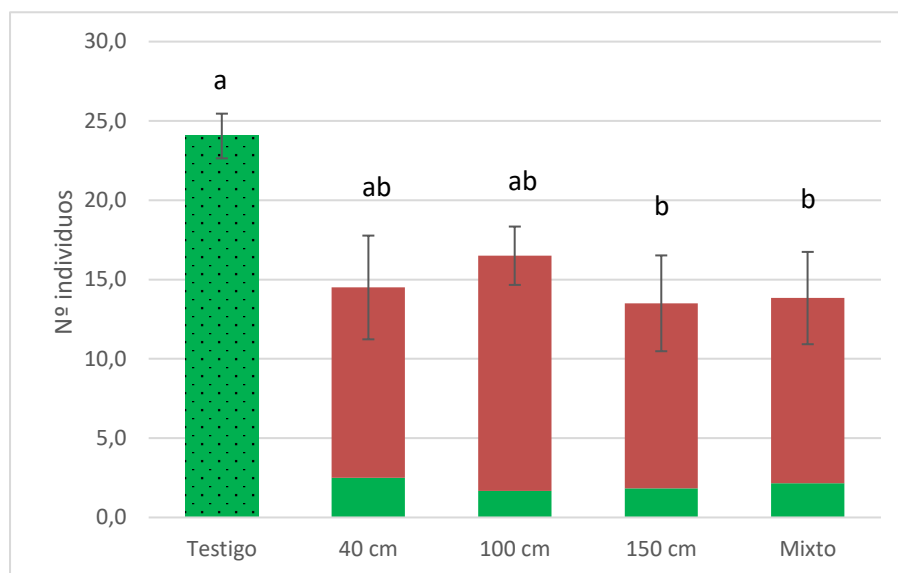


Figura 4-1. Número medio (\pm EEM) de *S. zeamais* (verde en tratamientos y verde punteado en testigo) y *A. calandreae* (en rojo) emergidos cuando el parasitoide fue liberado a diferentes alturas en relación con el número de adultos plaga del testigo. Los valores de cada tratamiento no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (Prueba de tukey, $P < 0.05$) $n=6$, 8 (control).

Si tenemos en cuenta la biomasa de insectos emergidos (plaga + enemigo natural), el peso de éstos en cada tratamiento en el que se liberaron los parasitoides, fue significativamente muy inferior al peso de los insectos emergidos en el tratamiento testigo ($F= 88.67$; g.l.= 4,31; $P < 0.0001$) (Figura 4-2). En este caso, las diferencias significativas se encontraron con todas las alturas ensayadas. En general, se puede deducir que la reducción de la contaminación (biomasa de insectos) que se consiguió gracias a la liberación del parasitoide fue del 85 % aproximadamente.

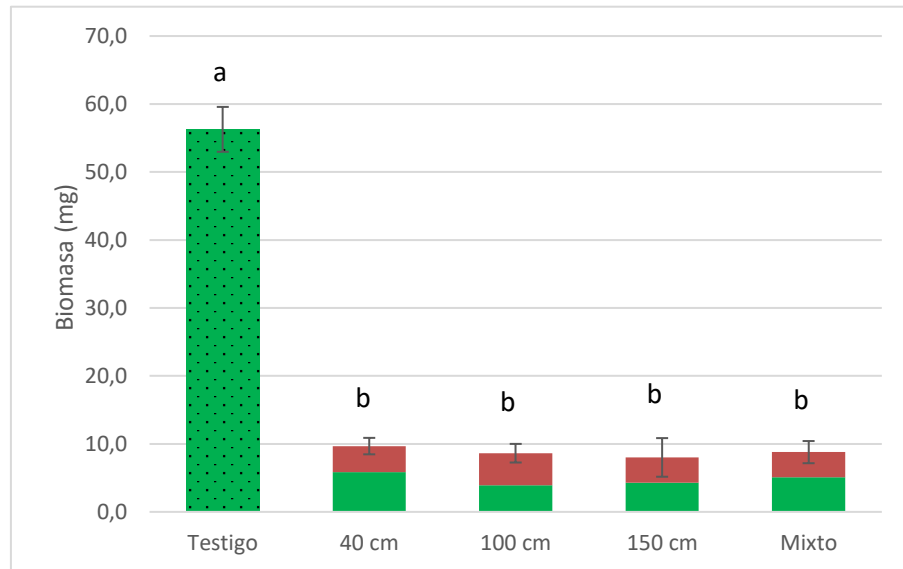


Figura 4-2. Biomasa media (\pm EEM) de *S. zeamais* (verde: tratamientos, verde punteado: control) y *A. calandreae* (en rojo) emergidos cuando el parasitoide fue liberado a diferentes alturas en relación con la biomasa de adultos plaga del testigo. Los valores de cada tratamiento no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (Prueba de tukey, $P < 0.05$) $n=6$, 8 (control).

5. Discusión

La naturaleza de *S. zeamais* hace que solo sea visible en su etapa adulta, por lo que es imposible distinguir el porcentaje de estadios inmaduros de la plaga que han sido depredados por el himenóptero (al alimentarse) de los que han sido parasitados (al reproducirse), ya que todo esto ocurre en el interior del grano. A pesar de eso, en todos los tratamientos se ha obtenido un mínimo de mortalidad total del 89 % y una mortalidad total global del 92 %, aplicando la fórmula de la efectividad del tratamiento de Abbott (5-1) (Abbott, 1925). En un estudio anterior realizado con las mismas especies, la mortalidad total de la plaga fue cercana al 80 % (Lucas & Riudavets, 2002), además, en otras especies de plagas de almacén, este parasitoide también ha sido capaz de controlarlos, llegando a mortalidades elevadas que sobrepasaron el 80 %. (Mahal et al., 2005).

$$\text{Efectividad (\%)} = \frac{\text{No. Vivos en testigo} - \text{No. Vivos en tratamientos}}{\text{No. Vivos en testigo}} \quad (5-1)$$

El hecho de no haber podido introducir un número exacto de larvas de *S. zeamais* en los experimentos, ha impedido conocer el parasitismo exitoso del himenóptero (número de parasitoides adultos emergidos, respecto al número de huéspedes proporcionados al principio de los tratamientos). Sin embargo, sí que se conoce el número de parasitoides iniciales y finales, y éstos se han duplicado, de los 6 parasitoides adultos introducidos inicialmente en cada tratamiento, hasta los 13 contabilizados globalmente al final de éstos. Unos resultados muy parecidos a los que se obtuvieron en un estudio en el que controlaron la plaga de almacén *Callosobruchus chinensis* en garbanzo, con este mismo parasitoide y a unas proporciones parecidas (Iturralde-García et al., 2020).

No ha habido diferencias significativas entre el número de adultos del gorgojo emergidos en cada una de las alturas, lo que quiere decir, que el parasitoide no ha tenido ningún problema en parasitar y reducir significativamente la plaga a 1,5 m de profundidad. Por lo tanto, este experimento de laboratorio con el parasitoide *A. calandrae* se podría llevar a silos y almacenes de arroz, ya que la mayoría de las plagas suelen instalarse en los primeros 100 cm de la superficie del grano. Este

parasitoide también ha sido capaz de penetrar y controlar *C. chinensis* en garbanzos a 100 cm de profundidad, con una reducción superior al 90% (Iturralde-García et al., 2020), en cambio, ha tenido más dificultades a la hora de controlar *S. oryzae* en maíz, de un 80 % de reducción de la plaga en la superficie, a un 20 % a una profundidad de 2,2 m (Press, 1988). Otro parasitoide de plagas de almacén como *Lariophagus distinguendus* (Förster) (Hymenoptera: Pteromalidae) también ha conseguido realizar un buen control en *C. chinensis* en garbanzo, logrado una reducción superior al 90 % (Iturralde-García et al., 2020). En cambio, este mismo parasitoide, no ha tenido tanto éxito a la hora de controlar *S. zeamais* en maíz, pasando de una reducción del 74 % a 20-45 cm de profundidad, a un 34 % a 95-100 cm (Adarkwah et al., 2012) Esto indica que, la densidad de los parasitoides por unidad de volumen del grano, podría ser un factor importante para determinar la profundidad a la que pueden penetrar (Steidle & Schöller, 2002).

La proporción de sexos emergidos del parasitoide, estaba sesgada en varios tratamientos, con una emergencia global de hembras del 32 %. En otro estudio se ha visto que, en proporciones altas de parasitoides:huéspedes, similares a las de este experimento, también existe una reducción en la progenie de hembras (Iturralde-García et al., 2020). Este fenómeno se podría explicar por un mayor número de huéspedes previamente parasitados encontrados por las hembras adultas, lo que les induciría a fertilizar menos huevos (Wylie, 1966), y puesto que, en los himenópteros es común la arrenotoquia, es necesario fertilizar los huevos para que nazcan hembras, pero no para que nazcan machos (Cook, 1993). Esta estrategia es común ante situaciones extremas, como puede ser la escasez de alimentos. Consiste en aumentar la nascencia de machos para elevar la variabilidad genética de la especie y aumentar sus posibilidades de prosperar.

El número medio de insectos adultos emergidos después de realizar el control biológico (plaga + parasitoide) ha sido un 39,4 % inferior, respecto a los emergidos en el testigo (sin parasitoide). Conocer este dato puede ser interesante para controlar las poblaciones durante el proceso de almacenado del arroz, pero una vez llegado al final de éste, ya no interesa tanto el número de individuos como sí la biomasa de los mismos. En la Figura 4-2 se observa que la biomasa global es un 84% inferior realizando el control biológico, respecto al testigo, por lo que se ha reducido considerablemente la contaminación por insectos en el arroz. Sigue la línea de un trabajo anterior, donde la biomasa total también se reduce drásticamente, aplicando este mismo parasitoide a proporciones similares en la plaga de almacén *C. chinensis* (Iturralde-García et al., 2020).



6. Conclusiones

- El parasitoide *A. calandrae* ha logrado penetrar verticalmente por el arroz cáscara hasta llegar a parasitar las larvas de *S. zeamais* situadas a profundidades de 40 cm, 100 cm y 150 cm y a profundidades mixtas, logrando un porcentaje de control de la plaga muy elevado, sin existir diferencias significativas entre los tratamientos.
- El nivel de contaminación del arroz por insectos, en el control biológico respecto al testigo, ha sido ligeramente inferior en número de individuos, pero muy inferior en cuanto a la biomasa de los mismos.

Bibliografia

Abbott, W. S. (1925) 'The Value of the Dry Substitutes for Liquid Lime', *Journal of Economic Entomology*, 18, pp. 265–267.

Adarkwah, C. *et al.* (2012) 'Potential of *Lariophagus distinguendus* (Förster) (Hymenoptera: Pteromalidae) to suppress the maize weevil *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) in bagged and bulk stored maize', *Biological Control*. Elsevier Inc., 60(2), pp. 175–181. doi: 10.1016/j.biocontrol.2011.11.003.

Arbogast, R. T. and Mullen, M. A. (1990) 'Interaction of Maize Weevil (Coleoptera: Curculionidae) and Parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) in a Small Bulk of Stored Corn', *Journal of Economic Entomology*, 83(6), pp. 2462–2468. doi: 10.1093/jee/83.6.2462.

Athanassiou C., Kavallieratos N.G., Palyvos N.E., B. C. T. (2003) 'Three-dimensional distribution and sampling indices of insects and mites in horizontally-stored wheat', 38(3), pp. 413–426.

Athanassiou, C. G. and Arthur, F. H. (2018) *Recent advances in stored product protection*, *Recent Advances in Stored Product Protection*, pp. 30-184. doi: 10.1007/978-3-662-56125-6.

Baena, M. D. S. *et al.* (2019) 'Resistência em populações das pragas de grãos armazenados *Tribolium castaneum*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus oryzae* e *Rhyzopertha dominica* aos inseticidas deltametrina e pirimifos-metil.', *Embrapa Soja-Capítulo em livro científico (ALICE)*, pp. 19–28.

Belda, C. and Riudavets, J. (2010) 'Attraction of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Howard) (Hymenoptera: Pteromalidae) to odors from grain and stored product pests in a Y-tube olfactometer', *Biological Control*. Elsevier Inc., 54(1), pp. 29–34. doi: 10.1016/j.biocontrol.2010.02.005.

Brautbar, N. and Howard, J. (2002) 'Phosphine toxicity: Report of two cases and review of the literature', *Toxicology and Industrial Health*, 18(2), pp. 71–75. doi: 10.1191/0748233702th133oa.

Carvalho, M. O. *et al.* (2012) 'The use of modified atmospheres to control *Sitophilus zeamais* and *Sitophilus oryzae* on stored rice in Portugal', *Journal of Stored Products Research*, 50, pp. 49–56. doi:



10.1016/j.jspr.2012.05.001.

Choi, W., Yoon, T., Ryoo, M. (2001) 'Host-size-dependent feeding behaviour and progeny sex ratio of *Anisopteromalus calandrae* (Hym., Pteromalidae)', *Journal of Applied Entomology*, 125(1–2), pp. 71–77.

Christensen, C. M. and Hodson, A. C. (1960) 'Development of Granary Weevils and Storage Fungi in Columns of Wheat—II', *Journal of Economic Entomology*, 53(3), pp. 375–380. doi: 10.1093/jee/53.3.375.

Cook, J. M. (1993) 'Sex determination in the hymenoptera: A review of models and evidence', *Heredity*, 71(4), pp. 421–435. doi: 10.1038/hdy.1993.157.

Daglish, G. J., Nayak, M. K. and Pavic, H. (2014) 'Phosphine resistance in *Sitophilus oryzae* (L.) from eastern Australia: Inheritance, fitness and prevalence', *Journal of Stored Products Research*. Elsevier Ltd, 59, pp. 1–8. doi: 10.1016/j.jspr.2014.03.007.

De Andrade Melo, J. L. *et al.* (2018) 'Insecticide resistance of corn weevil populations from semi-arid regions', *Australian Journal of Crop Science*, 12(3), pp. 430–434. doi: 10.21475/ajcs.18.12.03.pne863.

FAO (2011) 'Norma del Codex para el Camembert', *Codex Alimentarius - Leche y productos Lácteos*, pp. 177–181.

Guedes, N. M. P. *et al.* (2009) 'Deltamethrin-induced feeding plasticity in pyrethroid-susceptible and -resistant strains of the maize weevil, *sitophilus zeamais*', *Journal of Applied Entomology*, 133(7), pp. 524–532. doi: 10.1111/j.1439-0418.2009.01391.x.

Guzmán M., Broche E.E., Armas J.L., C. L. (2013) 'Utilización del control biológico Trichogramma pinto Voegelé en el manejo de plagas de almacén.', *Revista Agroecosistemas*, 1(21), pp. 61–67.

Howard, R. W. and Baker, J. E. (2003) 'Morphology and chemistry of Dufour glands in four ectoparasitoids: *Cephalonomia tarsalis*, *C. waterstoni* (Hymenoptera: Bethyridae), *Anisopteromalus calandrae*, and *Pteromalus cerealellae* (Hymenoptera: Pteromalidae)', *Comparative Biochemistry and Physiology - B Biochemistry and Molecular Biology*, 135(1), pp. 153–167. doi: 10.1016/S1096-

4959(03)00076-9.

Howe, R. W. (1962) 'A study of the heating of stored grain caused by insects', *Annals of Applied Biology*, 50(1), pp. 137–158. doi: 10.1111/j.1744-7348.1962.tb05995.x.

Iturralde-García, R. D., Riudavets, J. and Castañé, C. (2020) 'Biological control of *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Chrysomelidae) in stored chickpeas through the release of natural enemies', *Biological Control*. Elsevier, 149(May), p. 104322. doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104322.

Kebede, L., Getnet, B., Lema Y., Alebachew M., Ageze M. (2020) 'Post-harvest Processes and Advances to Introduce Loss-reducing Technologies for Rice', *Advances in Rice Research and Development in Ethiopia*, p. 181.

Kovach, M. J., Sweeney, M. T. and McCouch, S. R. (2007) 'New insights into the history of rice domestication', *Trends in Genetics*, 23(11), pp. 578–587. doi: 10.1016/j.tig.2007.08.012.

Lebreton, S., Darrouzet, E. and Chevrier, C. (2009) 'Could hosts considered as low quality for egg-laying be considered as high quality for host-feeding?', *Journal of Insect Physiology*, 55(8), pp. 694–699. doi: 10.1016/j.jinsphys.2009.04.017

Levinson, A. R. (1985) 'Storage and insect species', *Homo*, 100, pp. 321–339.

Lord, J. C. (2009) 'Desiccant Dusts Synergize the Effect of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on Stored-Grain Beetles', *Journal of Economic Entomology*, 94(2), pp. 367–372. doi: 10.1603/0022-0493-94.2.367.

Lucas, É. and Riudavets, J. (2002) 'Biological and mechanical control of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) in rice', *Journal of Stored Products Research*, 38(3), pp. 293–304. doi: 10.1016/S0022-474X(01)00033-9.

Magan, N. *et al.* (2003) 'Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain', *European Journal of Plant Pathology*, 109(7), pp. 723–730. doi: 10.1023/A:1026082425177.

MAGRAMA (2003) 'El protocolo de montreal y el bromuro de metilo', p. 15. Available at: <http://www.miliarium.com/Legislacion/atmosfera/estatal/BromuroMetilo.pdf>.



- Mahal, N. *et al.* (2005) 'Effect of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) in controlling residual populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat stores', *International Journal of Tropical Insect Science*, 25(4), pp. 245–250. doi: 10.1079/IJT200580.
- Mellaart, J. (1961) 'Hacilar: A Neolithic Village Site', *Scientific American*, 205(2), pp. 86–98. doi: 10.1038/scientificamerican0861-86.
- Mishra, A., Prabuthas, P. and Mishra, H. N. (2012) 'Grain storage: methods and measurements', *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 4(3), pp. 144–144. doi: 10.1111/j.1757-837x.2012.00151.x.
- Moreno, A. (2018) 'Silos, Graneros y Secaderos Agrícolas'. Madrid, España: Ediciones Paraninfo, S.A. p. 69.
- Niedermayer, S., Krogmann, L. and Steidle, J. L. M. (2016) 'Lost in space? Host-finding ability of the parasitoids *Lariophagus distinguendus* and *Anisopteromalus calandrae* in empty grain storage facilities to control residual pest populations', *BioControl*. Springer Netherlands, 61(4), pp. 379–386. doi: 10.1007/s10526-016-9717-4.
- Ojo, J. A. and Omoloye, A. A. (2012) 'Rearing the Maize Weevil, *Sitophilus zeamais*, on an Artificial Maize—Cassava Diet', *Journal of Insect Science*, 12(69), pp. 1–9. doi: 10.1673/031.012.6901.
- Omkar (2018) 'Pests and Their Management'. India: Springer Singapore. pp. 332-334. doi: 10.1007/978-981-10-8687-8.
- Opit, G. P. *et al.* (2012) 'Phosphine Resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* From Stored Wheat in Oklahoma', *Journal of Economic Entomology*, 105(4), pp. 1107–1114. doi: 10.1603/ec12064.
- Pekmez H. (2016) 'Cereal Storage Techniques: A Review', *Journal of Agricultural Science and Technology B*, 6(2), pp. 67–71. doi: 10.17265/2161-6264/2016.02.001.
- Pimentel, M. A. G. *et al.* (2009) 'Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)', *Journal of Stored Products Research*, 45(1), pp. 71–74. doi: 10.1016/j.jspr.2008.09.001.

Press, J. W., Flaherty B.R., Arbogast R.T. (1975) Control of the red flour beetle, *Tribolium castaneum*, in a warehouse by a predaceous bug, *Xylocoris flavipes*. *J Ga Entomol Soc*, 10, pp.76–78.

Press, J. W. (1988) 'Movement of a weevil parasitoid, *Anisopteromalus calandrae* (Howard), within a column of wheat in relation to host location', *Journal of Agricultural Entomology*, 5(3), pp. 205–208.

Riudavets, J. (2018a) 'Biological control of stored products pests', *IOBC-WPRS Bulletin*, 130, pp. 107–109.

Riudavets, J. (2018b) 'Gestión Integrada de Plagas en productos almacenados', *Boletín SEEA*, 3, pp. 23–26.

Riudavets, J., Lucas and E., Pons, M. (2002). Insects and mites of stored products in the northeast of Spain, 25, pp. 41-44.

Sauer, D. B. (1988) 'Effects of fungal deterioration on grain: nutritional value, toxicity, germination', *International Journal of Food Microbiology*, 7(3), pp. 267–275. doi: 10.1016/0168-1605(88)90045-1.

Smith, L. (1992) 'Effect of temperature on life history characteristics of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing maize weevil larvae in corn kernels', *Environmental Entomology*, 21(4), pp. 877–887. doi: 10.1093/ee/21.4.877.

Smith, L. (1993a) 'Host-size preference of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* [hym.: pteromalidae] on *Sitophilus zeamais* (col. : curculionidae) larvae with a uniform age distribution.', *Entomophaga*, 38(2), pp. 225–233.

Smith, L. (1993b) 'Effect of humidity on life history characteristics of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing maize weevil (Coleoptera: Curculionidae) larvae in shelled corn', *Environmental Entomology*, 22(3), pp. 618–624. doi: 10.1093/ee/22.3.618.

Solà, M., Riudavets, J. and Castañé, C. (2013). 'The use of the parasitoid *Anisopteromalus calandrae* for the control of the weevils *S. zeamais* and *R. dominica* in rice'. *Conference paper*.



Steidle, J. L. M. and Schöller, M. (2002) 'Fecundity and ability of the parasitoid *Lariophagus distinguendus* (Hymenoptera: Pteromalidae) to find larvae of the granary weevil *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) in bulk grain', *Journal of Stored Products Research*, 38(1), pp. 43–53. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00044-8.

Trematerra, P. (2009) 'Preferences of *Sitophilus zeamais* to different types of Italian commercial rice and cereal pasta', *Bulletin of Insectology*, 62(1), pp. 103–106.

Valencia Fruits. (2019) 'La cosecha española de arroz cae más de un 4% en 2019, según cooperativas'. Available at: <http://valenciafruits.com/cosecha-arroz/>.

Winters, S. (2002) 'Extreme temperatures', *Metallurgia*, 69(7), p. 7. doi: 10.1016/b978-1-891127-50-2.50020-x.